

# Studies on the mechanisms and genetics of pyraclofos resistance in the housefly

著者	李 時雨
内容記述	Thesis (Ph.D. in Agriculture)--University of Tsukuba, (A), no. 1469, 1996.3.25
発行年	1996
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/4064">http://hdl.handle.net/2241/4064</a>

氏 名(国 籍)	李 時 雨 (韓 国)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1,469 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
審 査 研 究 科	農 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	Studies on the mechanisms and genetics of pyraclofos resistance in the housefly (イエバエにおけるピラクロホス抵抗性の機構と遺伝に関する研究)
主 査	筑波大学教授 農学博士 正 野 俊 夫
副 査	筑波大学教授 農学博士 白 井 健 二
副 査	筑波大学併任教授 農学博士 濱 弘 司
副 査	筑波大学助教授 農学博士 本 田 洋

## 論 文 の 要 旨

非対称型有機りん剤のピラクロホスは従来型の有機りん剤に抵抗性を示す害虫を防除する目的で開発された農業用、防疫用の殺虫剤である。現在までのところ、この殺虫剤に抵抗性を示す害虫の出現に関する報告はないが、他の多くの殺虫剤と同様に、ピラクロホスも抵抗性害虫の出現から逃れることはできないものと考えられる。そこで、予め実験室内でピラクロホス抵抗性の昆虫を作り、その抵抗性の機構と遺伝様式を明らかにし、抵抗性害虫出現時の対策に備えることとした。実験用の昆虫としては抵抗性に関する研究が最も多く行われているイエバエ (*Musca domestica* L.) が選ばれた。

東京都のゴミ処分場である第3夢の島から採集したイエバエを実験室内で13代にわたりピラクロホスで淘汰して、標準感受性系統のSRS系より650倍高い抵抗性を示す抵抗性のイエバエ YBOL 系を得た。YBOL 系イエバエはパラチオン、メチルパラチオン、フェニトロチオン、マラチオン、ダイアジノン、フェンチオンに対して高い交差抵抗性を、デクロロボスと、非対称型のプロフェノホス、プロチオホス、スルプロホス、プロペタムホスに対しては比較的低い交差抵抗性を示した。ピレスロイド剤のパーマスリンに対しては交差抵抗性を示さなかった。有機塩素剤の一つであるディルドリンに対して62倍の交差抵抗性を示した。有機りん剤の標的酵素であるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) のピラクロホスに対する感受性を調べたところ、YBOL 系イエバエではその感受性が1/70に低下していることが明らかになり、AChE のピラクロホスに対する感受性低下が YBOL 系のイエバエのピラクロホス抵抗性機構の一つであるのが判明した。また、P 450酸化酵素の阻害剤であるピペロニルブトキサイドが感受性の SRS 系イエバエにおいてはピラクロホスに拮抗的に働き、抵抗性の YBOL 系イエバエにおいてはピラクロホスに対して共力的に働くことが示された。このことは P 450酸化酵素が YBOL 系イエバエの抵抗性機構の一つとして働いていることを示唆している。

放射性の<sup>14</sup>Cで標識したピラクロホスを用いて、ピラクロホスの *in vivo* における代謝を抵抗性の YBOL 系と感受性の SRS 系の間で比較した。ピラクロホスの皮膚透過性は両系統間で差は見られず、皮膚透過性は抵抗性の機構として働いていないことが明らかになった。ピラクロホスの代謝物には抵抗性 YBOL 系と感受性 SRS 系の間に大きな違いが見られた。抵抗性系統では代謝物 CHP (1-(4-chlorophenyl)-4 hydroxy-pyrazole) とその抱合体 (グルコシドとスルフェート) の量が多かった。一方、感受性系統では代謝物 EHP-CHP (0-1-(4-chlorophenyl) pyrazole-4-yl 0-ethyl hydrogen phosphorothioate) が多く生産された。代謝物 SHP-CHP (0-1-(4-chlorophenyl)

pyrazole-4-ylS-n-propyl hydrogen phosphorothioate) は両系統のイエバエで生産量が少なく、系統間に生産量の差はなかった。この結果から、感受性系統では主代謝経路がピラクロホスの P-S-n-propyl 結合を切って EHP-CHP に代謝されるのに対して、抵抗性系統では主代謝経路が P-O-aryl 結合を切って CHP とその抱合体を作る経路になっていることが明らかになり、この代謝経路に係わっている酵素が抵抗性の機構に関与していることが示唆された。

ピラクロホスの *in vitro* における代謝を抵抗性の YBOL 系と感受性の SRS 系で比較したところ、ピラクロホスを分解する P 450 酸化酵素、加水分解酵素、ならびに UDP グルコース転移酵素の活性が抵抗性の YBOL 系で強く、これらの酵素が抵抗性機構として働いているものと思われた。

各染色体を可視突然変異形質で標識した系統を用いて YBOL 系統のピラクロホス抵抗性の連鎖群解析を行った。その結果、ピラクロホス抵抗性は不完全優性であり、優性の抵抗性遺伝子が第 2, 4, 5 染色体上に存在することが明らかになった。各染色体のピラクロホス抵抗性に対する貢献度は第 2 染色体が一番大きく、次いで第 5, 第 4 染色体の順であった。YBOL 系の第 2 染色体, 第 4 染色体, または第 5 染色体のみを持った系統をそれぞれ作り、各染色体上の抵抗性遺伝子の役割をしらべたところ、第 2 染色体と第 4 染色体の上には AChE 感受性低下に関与する遺伝子が、第 5 染色体上には P 450 酸化酵素の活性を上昇させる遺伝子が乗っていることが判明した。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、農業害虫、衛生害虫の防除に広く使われている非対称型の有機りん剤ピラクロホスについて実験室内で抵抗性のイエバエを作り、その抵抗性の機構と遺伝様式を調べ、将来、野外で出現するであろう抵抗性害虫に関する知見を予め得る目的で行われた。第 3 夢の島系より得られたピラクロホス抵抗性の YBOL 系では、抵抗性の機構として AChE の感受性低下が大きな役割を果たしていることを明らかにした。更に、ピラクロホスの代謝を抵抗性系統と感受性系統について、*in vivo* と *in vitro* の双方で調べ、解毒酵素である P 450 酸化酵素、加水分解酵素、UDP グルコース転移酵素の、抵抗性系統での活性上昇が抵抗性の機構として働いていることを解明した。また、ピラクロホス抵抗性の遺伝様式を調べたところ不完全優性を示し、優性の遺伝子が第 2, 第 4, 第 5 染色体上に存在することも明らかにした。

以上、ピラクロホス抵抗性の遺伝様式を解明し、抵抗性の機構として AChE の感受性の低下と種々の解毒酵素の活性上昇が重要な役割を果たしていることを指摘し、世界中で農業害虫、衛生害虫の防除に広く使われている非対称型有機りん剤ピラクロホスに対する抵抗性問題に貴重な情報を提供したことは、基礎、応用の両面から高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。